

MEGACARIÓCITOS E NEOPLASIAS EXPERIMENTAIS.
4. ESTUDO DO PULMÃO, FÍGADO SUPRA-RENAIS
E GÂNGLIOS LINFÁTICOS¹

M. R. Q. DE KASTNER *

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Guanabara

(Com 1 estampa)

Em publicações anteriores apresentamos os resultados obtidos no estudo dos megacariócitos na medula óssea e no baço dos animais portadores de neoplasias experimentais. Na ocasião observamos que, nos animais inoculados na veia da cauda, com Sarcoma 180, tanto a medula como o baço, apresentavam um número elevado de megacariócitos. Resaltamos também que, quando os animais são inoculados no peritônio, o número de megacariócitos encontrados na medula é elevado, porém, no baço, o número dos mesmos varia em torno do valor normal.

O material que serviu aos nossos estudos provém dos camundongos resume uma minuciosa avaliação sobre a presença de megacariócitos no pulmão, fígado, supra-renais e gânglios linfáticos destes mesmos animais portadores do Sarcoma 180.

MATERIAL E MÉTODOS

O material que serviu aos nossos estudos provém dos camundongos inoculados com Sarcoma 180, e já em parte estudados quando de nosso trabalho sobre o baço (10) e a medula (9, 11). Empregamos aqui os pulmões, fígado, supra-renais e gânglios linfáticos.

O material, incluído na parafina, foi cortado com 5 μ de espessura. Usamos como coloração a hematoxilina-eosina, o tricrômico de Gomori e a técnica do PAS.

Para uma melhor compreensão, este material será dividido em três grupos:

¹ Recebido para publicação a 11 de setembro de 1970.

* Pesquisador em Biologia. Divisão de Patologia. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. Guanabara.

A) *Animais inoculados na veia da cauda*

Lote 1º — receberam uma dose de 0,1 ml de ascite proveniente de um animal com Sarcoma 180.

Lote 2º — a dose foi de 0,2 ml.

Lote 3º — com uma dose de 0,3 ml.

Cada lote foi sacrificado em grupos de 5 animais, em tempos variados (1, 2 e 3 dias após a inoculação).

B) *Animais inoculados no peritônio*

Lote 4º — receberam uma dose de 0,5 ml de líquido ascítico no peritônio, sendo sacrificados em grupos de 5, em tempos variados (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dias após a inoculação).

C) *Animais testemunhas*

Lote 5º — constituído por um grupo de 10 animais normais.

RESULTADOS

Os resultados obtidos são apresentados nas Tabelas I (animais inoculados na veia da cauda) e II (animais inoculados no peritônio). Referem-se ao estudo de 5 campos (Oc. 10 Obj. 10 Olympus) por órgão de cada animal. Os valores representam a média de 5 animais.

O pequeno número de megacariócitos encontrados nestes órgãos, não permitiu que, no presente estudo, fôsse adotado um critério quantitativo. Assim, para efeito de avaliação, consideramos os seguintes graus: (++) mais de um megacariócito por campo; (+) um megacariócito por campo; (—) um só megacariócito nos 5 campos e (0) nenhum megacariócito nos 5 campos.

Pela análise dos resultados depreende-se que, nos animais inoculados no peritônio, o número de megacariócitos encontrados no pulmão foi significativamente elevado, ao passo que nos animais inoculados na veia da cauda foi bem menor, sendo porém superior ao encontrado nos animais testemunhas.

Os resultados obtidos no estudo do fígado são discretos nas duas séries. Nos animais contrôles nunca foram encontrados megacariócitos no fígado.

Por outro lado, às vezes, foi demonstrada a presença de megacariócitos nos gânglios linfáticos de alguns camundongos inoculados na veia da cauda, no 2º e no 3º dia após a inoculação (dose de 0,2 e 0,3 ml).

Finalmente, os resultados obtidos nas supra-renais indicaram ausência completa de megacariócitos, tanto nos contrôles como nos animais inoculados.

Do ponto de vista citológico cabe assinalar que os megacariócitos encontrados no pulmão (Tipo III) mediam em média cerca de 55μ e apresentavam núcleos extraordinariamente polimorfos, alongados ou multilobulados. Alguns destes elementos mostravam citoplasma PAS po-

sitivo, de limites imprecisos. Verificamos, também, a presença de núcleos picnóticos e desprovidos de citoplasma, dando-nos a impressão de se tratar de células em processo de necrobiose (Fig. 1).

No fígado os megacariócitos apresentavam formas arredondadas, de tamanho normal (40μ) com núcleos às vezes lobulados ou formando uma série de segmentos unidos entre si. O citoplasma freqüentemente bem delimitado (Fig. 2).

Finalmente, nos gânglios linfáticos em que nós encontramos megacariócitos, estes apresentavam-se muitas vezes aumentados de volume (60μ) e formando agregados em diferentes estados de maturação.

DISCUSSÃO

A existência de megacariócitos extramedulares já foi descrita para a maioria dos animais adultos e, segundo diversos autores, o seu número aumenta quando o animal é portador de tumores malignos. A esse respeito estamos estudando, em sucessivos trabalhos, a sua presença e distribuição nos diversos órgãos de camundongos inoculados com Sarcoma 180.

Em primeiro lugar, o que mais chamou a nossa atenção neste trabalho, é a presença elevada e constante de megacariócitos encontrados no pulmão dos animais inoculados no peritônio, em contraste com o número bem menor apresentado pelos animais inoculados na veia da cauda. Verificamos também que nos animais contrôles, ainda que a presença de megacariócitos nos pulmões parece ser um fato fisiológico geral, o seu número é de um megacariócito por 5 campos aproximadamente.

Uma vez tendo-se estabelecido que os megacariócitos são libertados pela medula óssea e trazidos aos pulmões pela circulação geral, convém lembrar os nossos estudos anteriores, referentes à medula, para poder explicar esta diferença de resultados.

Constatamos então, nos animais inoculados na veia da cauda (9), que os megacariócitos dos Tipos I e II apresentavam-se proporcionalmente em maior quantidade do que os do Tipo III. Interpretamos esta ocorrência como devida a um estímulo que, desencadeando um processo rápido de maturação sobre o Tipo II, produziria a formação de megacariócitos plaquetóides, os quais, rapidamente desintegrar-se-iam, liberando as plaquetas. Provavelmente esta labilidade será a responsável pela presença de menor número de megacariócitos nos pulmões dos animais inoculados na veia da cauda.

Já nos animais inoculados no peritônio, ao estudar a medula (11) constatamos a existência de grande quantidade de megacariócitos do Tipo III. Certamente estes elementos, levados ao pulmão pela circulação venosa, explicam a presença elevada e constante de megacariócitos encontrados no pulmão dos animais inoculados no peritônio. Uma vez

no pulmão, êstes megacariócitos seriam retidos e destruídos, na sua maior parte, como demonstramos ao estudar a relação entre o parênquima pulmonar e as células volumosas circulantes (2, 3).

Os nossos resultados parecem confirmar, uma vêz mais, que a presença de megacariócitos no pulmão é um fato fisiológico, fazendo parte do ciclo biológico normal desta célula. A sua incidência estará estreitamente correlacionada com o número de megacariócitos formados na medula, os quais, através do fluxo venoso chegariam ao pulmão, e em determinadas circunstâncias (neste caso uma neoplasia) o número de megacariócitos no pulmão aumentaria como consequência de uma intensa megacariocitopoiese medular (1, 4, 12).

Em pesquisas realizadas na literatura, constatamos que CATAYÉE e colaboradores (5, 6, 7) verificaram também uma importante atividade megacariocitária durante a evolução de neoplasias experimentais em ratos. Assinalaram a presença destas células não só no baço como também na região fasciculada da córtex suprarenal.

HUEPER (8) estuda também a megacariocitose em camundongos com carcinoma espontâneo da mama e assinala a presença de megacariócitos no pulmão, baço, fígado, rim e nódulos linfáticos.

TRAYKOVICH (13), trabalhando com hamsters encontra uma megacariocitopoiese extramedular no baço, fígado e gânglios linfáticos dêstes animais com sarcoma polimorfo.

No que se refere a êste nosso estudo, concordamos com êstes dois últimos autores no que se refere à presença de megacariócitos no fígado, tanto dos animais inoculados na veia da cauda, quanto aos inoculados no peritônio; já nos supra-renais nunca foram encontrados por nós, e nos gânglios linfáticos só foram achados em 4 animais dos 45 inoculados na veia da cauda.

Finalmente, do ponto de vista citológico, cabe assinalar que os nossos achados coincidem com os assinalados pela maioria dos autores tanto em estudos experimentais quanto em humanos. Revendo a vasta bibliografia referente a megacariócitos encontrados nos pulmões, comprova-se que os autores são unânimes em assinalar êstes elementos celulares como enormes, apresentando núcleos extraordinariamente polimorfos, alongados ou lobulados, presos na árvore capilar dos septos alveolares. Outras vêzes o núcleo apresenta-se picnótico e desprovido de citoplasma, dando a impressão de células em processo de necrobiose.

Já no fígado, são de tamanho normal e de formas arredondadas com núcleos lobulados ou segmentados, porém, unidos entre si.

Finalmente, os megacariócitos encontrados nos gânglios linfáticos lembram os que se encontram no baço; apresentam-se ora soltos e livres, ora formando pequenos acúmulos onde geralmente formam células grandes em diversos estados de maturação.

TABELA I
ANIMAIS INOCULADOS NA VEIA DA CAUDA COM SARCOMA 180

Lotes	Dias	Número de Animais	MEGACARIÓCITOS			
			Pulmão	Fígado	Supra-renais	Gânglios Linfáticos
1. ^o 0,1 ml	1	5	+	0	0	0
	2	5	-	0	0	0
	3	5	+	-	0	0
2. ^o 0,2 ml	1	5	-	+	0	0
	2	5	+	-	0	**
	3	5	+	-	0	*
3. ^o 0,3 ml	1	5	-	-	0	0
	2	5	+	-	0	*
	3	5	+	+	0	0
5. ^o Contrôles		10	-	0	0	0

LEGENDA: + = um megacariócito por campo.
 - = um só megacariócito nos 5 campos.
 0 = nenhum megacariócito nos 5 campos.
 * = um só animal com megacariócitos.

TABELA II
ANIMAIS INOCULADOS NO PERITÔNIO COM SARCOMA 180

Lotes	Dias	Número de Animais	MEGACARIÓCITOS			
			Pulmão	Fígado	Supra-renais	Gânglios Linfáticos
4. ^o 0,5 ml	1	5	+	—	0	0
	2	5	+	0	0	0
	3	5	++	+	0	0
	4	5	+	—	0	0
	5	5	++	—	0	0
	6	5	++	+	0	0
	7	5	++	+	0	0
5. ^o Contrôles		10	—	0	0	0

LEGENDA: ++ = mais de um megacariócito por campo.
+ = um megacariócito por campo.
— = um só megacariócito nos 5 campos.
0 = nenhum megacariócito nos 5 campos.

SUMÁRIO

Foi feita uma avaliação da presença de megacariócitos no pulmão, fígado, supra-renais e gânglios linfáticos de animais portadores do Sarcoma 180.

Concluimos que:

1. O número de megacariócitos encontrados no pulmão, estaria estreitamente correlacionado com o número de megacariócitos formados na medula.
2. Em determinadas circunstâncias (neste caso neoplasias) o número de megacariócitos no pulmão, aumenta como consequência de uma ativa megacariocitopoiese medular.
3. Os megacariócitos encontrados no pulmão destes animais apresentam núcleos extraordinariamente polimorfos e às vezes picnóticos.
4. Nos animais portadores de neoplasia (Sarcoma 180) encontram-se megacariócitos no fígado.

SUMMARY

In the course of the study of megakaryocytes of mice with grafted tumors (Sarcoma 180), sections of the lungs, liver, adrenals and lymphatic nodes were observed.

This study resulted in the following:

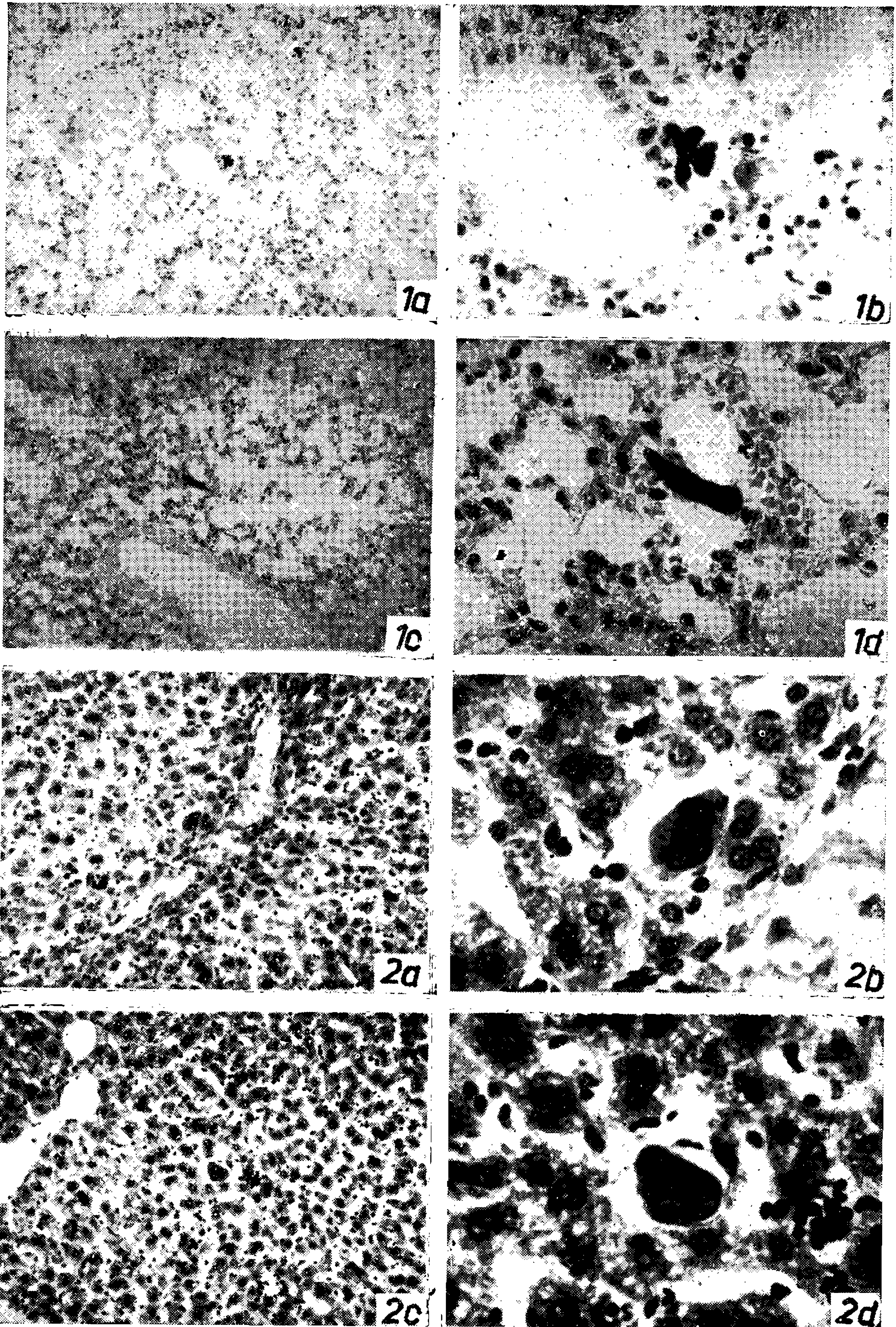
1. A correlation was found between the occurrence of these cells in the lungs and the medullary megakaryocytopoiesis.
2. Under pathologic conditions (neoplasms) which stimulate megakaryocytopoiesis, the numbers of pulmonary megakaryocytes were increased.
3. In the inoculated mice, the more common among the megakaryocytes were the largest forms with multilobulated nucleus mostly piknotic.
4. Megakaryocytes were observed frequently in the liver of mice with Sarcoma 180.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AIRÒ, R., MANDELLI, P. G., TAVERNA, P. L., 1968, Ulteriore contributo allo studio dei megacariociti polmonari. *Haematologica Latina* 11 : 81-92.
2. ALENCAR, A., KASTNER, M. R. Q., 1969, Sobre a relação entre o parênquima pulmonar e as células neoplásicas circulantes. *O Hospital* 75 : 1197-1215.
3. ALENCAR, A., KASTNER, M. R. Q., 1968, Idem. II Estudo histopatológico em material humano. *O Hospital* 74 : 2004-2014.
4. BRILL, R., HALPERN, M. M., 1948, The Frequency of Megakaryocytes in Autopsy Sections. *Blood* 3 : 286-291.
5. CATAYÉE, G., BICCHIERAY, L., 1966, Localisations anormales de mégacaryocytes chez le Rat porteur de tumeur expérimentale. *C. R. S. Soc. Biol.*, 160 : 155-157.
6. CATAYÉE, G., BICCHIERAY, L., OBERTI, J., 1966, Modifications de la rate et des surrénales au cours de l'évolution de greffes tumorales chez le rat. *Bull. Assoc. Anatomistes*, 51^e Réunion, 232-238.
7. CATAYÉE, G., SENELAR, R., BICCHIERAY, L., POLI, A., GUTIERREZ, A., 1968, Les réactions spléniques, thymiques et sursénaliennes au cours de l'évolution des greffes tumorales chez le rat. Études morphologiques et histochimiques. *Bull. Assoc. Anatomistes*, 141 : 656-666.
8. HUEPER, W. C., 1934, Megakaryocytosis in white mice with spontaneous mammary carcinomas. *Amer. J. of Amer. Sciences* 188 : 41-49.
9. KASTNER, M. R. Q. DE, 1970, Megacariócitos e neoplasias experimentais. 1 — Estudo da medula. *O Hospital* 77 : 1609-1618.
10. KASTNER, M. R. Q. DE, 1970, Megacariócitos e neoplasias experimentais. 2 — Estudo do baço. *O Hospital* 77 : 1619-1631.
11. KASTNER, M. R. Q. DE, 1970, Megacariócitos e neoplasias experimentais. 3 — Estudo da medula de animais inoculados no peritônio. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 68(2).
12. KAUFMAN, R. M., AIRÒ, R., POLLACK, S., CROSBY, W. H., DOBERNECK, R., 1965, Origin of Pulmonary Megakaryocytes. *Blood* 25 : 767-775.
13. TRAYKOVICH, V., RIVIÈRE, M. R., 1966, Megakaryocytes in blood and extramedullary hematopoiesis. Occurrence in Hamsters with Grafted Tumors. *Cancer* 19 : 1717-1724.

ESTAMPA I

- Fig. 1** — Pulmão de camundongo inoculado no peritônio (dose: 0,5 ml; 3.º dia).
- a) Megacariócito no interior de capilar pulmonar, vendo-se o seu núcleo, vesiculoso e irregular, em picnose. Col. PAS; Oc. 10; Obj. 10; Olympus.
 - b) Detalhe. Col. PAS; Oc. 10; Obj. 40; Olympus.
 - c) Megacariócito retido no septo alveolar; com núcleo alongado e em picnose. Col. PAS; Oc. 10; Obj. 10; Olympus.
 - d) Detalhe. Col. PAS; Oc. 10; Obj. 40; Olympus.
- Fig. 2** — Fígado de camundongo inoculado no peritônio (dose: 0,5 ml; 7.º dia).
- a) Megacariócito com núcleo lobulado. Col. HE; Oc. 10; Obj. 10; Olympus.
 - b) Detalhe. Col. HE; Oc. 10; Obj. 40; Olympus.
 - c) Megacariócito com núcleo bem lobulado. Col. HE; Oc. 10; Obj. 10; Olympus.
 - d) Detalhe. Col. HE; Oc. 10; Obj. 40; Olympus.



Kastner: Megacariócitos em neoplasias